

E P • U S

P C T

国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)
〔P C T 1 8 条、P C T 規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 UMPCT-01-001	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(P C T / I S A / 2 2 0) 及び下記 5 を参照すること。	
国際出願番号 P C T / J P 0 1 / 0 1 2 8 5	国際出願日 (日.月.年) 2 2 . 0 2 . 0 1	優先日 (日.月.年) 2 2 . 0 2 . 0 0
出願人 (氏名又は名称) 株式会社 ホギメディカル		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (P C T 1 8 条) の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 (P C T 規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K38/36, 38/37, 31/715, 9/00, 47/38, A61P17/02, 7/04, A61L15/16, D06M13/21

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K38/36, 38/37, 31/715, 9/00, 47/38, A61P17/02, 7/04, A61L15/16, D06M13/21

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X, Y	EP, 956869, A2 (HOGY MEDICAL CO.) 17. 11月. 1999 (17. 11. 99) whole document & US, 6200587, A & JP, 11-322615, A	1-33
P, A	JP, 3057446, B (株式会社ホギメディカル) 21. 4月. 2000 (21. 04. 00) & JP, 2000-256958, A & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN. 133:121860	1-33

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28. 03. 01

国際調査報告の発送日

10.04.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

森井 隆信

4C

9455

電話番号 03-3581-1101 内線 3451

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO, 96/40174, A1 (THE AMERICAN NATIONAL RED CROSS) 19. 12月. 1996 (19. 12. 96) whole document & EP, 869804, A1 & US, 6054122, A & JP, 11-507277, A	1-33
Y	WO, 96/17633, A1 (THE AMERICAN NATIONAL RED CROSS) 13. 6月. 1996 (13. 06. 96) whole document & EP, 796115, A1 & JP, 10-510183, A	1-33

CLAIMS:

1. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber characterized in that coagulation proteins are imparted to a natural or regenerated cellulose fibers that has been carboxymethylated to an extent so that the degree of substitution of the glucose units constituting the cellulose molecule is 0.5 - less than 1.0%.

2. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 1 herein above characterized in that the coagulation proteins consists of three types, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII.

3. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 2 herein above characterized in that the coagulation proteins are imparted by surface application to the aforesaid carboxymethylated natural or regenerated cellulose fibers.

4. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 3 herein above characterized in that the coagulation proteins are applied by spraying a solution thereof.

5. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim ~~3~~ ~~or 4~~ herein above characterized in that the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, are imparted jointly in a single application.

6. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim ~~3~~ ~~or 4~~ herein above characterized in that the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII are imparted severally by way of consecutive applications.

7. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 2 herein above characterized in that the coagulation proteins are imparted by chemical bonding to the aforesaid carboxymethylated natural or regenerated cellulose fibers.

8. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 7 herein above characterized in that the coagulation proteins are chemically bonded by reacting them with the aforesaid carboxymethylated natural or regenerated cellulose fibers previously treated with carbodiimide.

9. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim~~s~~ 7 ~~or 8~~ herein above characterized in that the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, are chemically bonded jointly in a single pass.

10. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim~~s~~ 7 ~~or 8~~ herein above characterized in that the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, are chemically bonded severally in consecutive passes.

11. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim~~s~~ 1 ~~through to 10~~ herein above characterized in that the aforesaid natural or regenerated cellulose fibers are pulverized after imparting the coagulation proteins.

12. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 1 herein above characterized in that the aforesaid natural or regenerated cellulose fibers obtained by imparting the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, by individual surface applications are individually pulverized and mixed after imparting said coagulation proteins.

13. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 12 herein above characterized in that the coagulation proteins are applied by spraying a solution thereof.

14. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 12 herein above characterized in that the aforesaid natural or regenerated cellulose fibers obtained by imparting the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, obtained by individual chemical bonding are individually pulverized and mixed after imparting said coagulation proteins.

15. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 14 herein above characterized in that the coagulation proteins are chemically bonded by reacting them with the aforesaid carboxymethylated natural or regenerated cellulose fibers previously treated with a carbodiimide reagent.

16. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claims 1 ~~through to 15~~ herein above characterized in that the aforesaid natural or regenerated cellulose fibers are drawn thread array consisting of a number of single threads loosely twisted together.

17. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claims 1 ~~through to 15~~ herein above characterized in that the aforesaid natural or regenerated cellulose fibers are obtained by plain or twill weaving the drawn thread array consisting of a number of single threads loosely twisted together.

18. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claims 17 ~~or 17~~ herein above characterized in that the drawn fiber arrays have a thickness of 20 - 100 Denier.

19. What is claimed is a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with ~~any one of~~ ^{thrombin above} claims 1 through to 15 characterized in that said natural or regenerated cellulose fibers are a gauze-like material obtained by shoddy wool treatment.

20. What is claimed is a method of producing a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber characterized in that after treatment of the natural or regenerated cellulose fiber with an aqueous sodium hydroxide solution, this is caused to react with a monochloro acetic acid solution for carboxymethylation to such an extent that the degree of substitution of the hydroxyl groups of the glucose units constituting the cellulose molecule (etherification degree) is 0.5 to less than 1.0%, with subsequent refining and imparting of said coagulation proteins by spray application of a solution of the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, with subsequent drying.

21. What is claimed is a method of producing the aforementioned soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 20 herein above characterized in that said solution of the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, is spray-applied jointly in a single pass.

22. What is claimed is a method of producing the aforementioned soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 20 herein above characterized in that said solution of the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, is spray-applied severally in separate consecutive passes.

23. What is claimed is a method of producing the aforementioned soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber characterized in that after treatment of the natural or regenerated cellulose fiber with an aqueous sodium hydroxide solution, this is caused to react with a monochloro acetic acid solution for

carboxymethylation to such an extent that the degree of substitution of the hydroxyl groups of the glucose units constituting the cellulose molecule (etherification degree) is 0.5 to less than 1.0%, with subsequent refining and, after treatment with a carbodiimide agent, imparting of said coagulation proteins by chemical bonding of a solution of the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, with subsequent drying.

24. What is claimed is a method of producing the aforementioned soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 23 herein above characterized in that the treatment with said solution of the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, is carried out jointly in a single pass.

25. What is claimed is a method of producing the aforementioned soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 23 herein above characterized in that the treatment with said solution of the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, is carried out severally in separate consecutive passes.

26. What is claimed is a method of producing the aforementioned soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with ~~any one of claims 20 through to 25~~ herein above characterized in that after imparting the coagulation proteins and after subsequent drying, the aforesaid natural or regenerated cellulose fiber is pulverized.

27. What is claimed is a method of producing the aforementioned soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 20 herein above characterized in that said solution of the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, is spray-applied severally in separate consecutive passes, and that after imparting said coagulation proteins and after subsequent drying,

the aforesaid natural or regenerated cellulose fibers are pulverized and mixed.

28. What is claimed is a method of producing the aforementioned soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with claim 23 herein above characterized in that said solution of the three types of coagulation protein, being fibrinogen, thrombin, and coagulation factor XIII, is used for chemical bonding severally and individually, and that after imparting said coagulation proteins and after subsequent drying, the aforesaid natural or regenerated cellulose fibers are pulverized and mixed.

29. What is claimed is a method of producing the aforementioned soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with ~~any one of claims 20 through to 28~~ herein above characterized in that the reaction with monochloro acetic acid is conducted for 4 - 18 hours.

30. What is claimed is method of producing a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with ~~claims 20 through to 29~~ herein above characterized in that the aforesaid natural or regenerated cellulose fibers are drawn thread array consisting of a number of single threads loosely twisted together.

31. What is claimed is method of producing a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with ~~claims 20 through to 29~~ herein above characterized in that the aforesaid natural or regenerated cellulose fibers are obtained by plain or twill weaving the drawn thread array consisting of a number of single threads loosely twisted together.

32. What is claimed is method of producing a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with ~~claims 30 through to 31~~ herein above characterized in that the drawn fiber arrays have a thickness of 20 - 100 Denier.

33. What is claimed is method of producing a soluble trauma-healing hemostatic cellulose fiber in accordance with ~~any one of claims 20 through to 29~~ herein above characterized in that said natural or regenerated cellulose fibers are a gauze-like material obtained by shoddy wool treatment.

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001年8月30日 (30.08.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/62278 A1

(51) 国際特許分類: A61K 38/36, 38/37, 31/715, 9/00,
47/38, A61P 17/02, 7/04, A61L 15/16, D06M 13/21

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/01285

(22) 国際出願日: 2001年2月22日 (22.02.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2000-43786 2000年2月22日 (22.02.2000) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社
ホギメディカル (HOGY MEDICAL CO., LTD.)
[JP/JP]; 〒113-0034 東京都文京区湯島1丁目12番4号
Tokyo (JP).

Yoshio) [JP/JP]. 青島元法 (AOSHIMA, Motonori)
[JP/JP]. 田辺孝治 (TANABE, Koji) [JP/JP]. 松下幸一
(MATSUSHITA, Koichi) [JP/JP]. 井上利樹 (INOUE,
Toshiki) [JP/JP]; 〒113-0034 東京都文京区湯島1丁目
12番4号 株式会社 ホギメディカル内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 弁理士 梅村莞爾 (UMEMURA, Kanji); 〒
101-0041 東京都千代田区神田須田町1丁目19番地
Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (BE, DE, ES, FR, GB).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 徐 吉夫 (JO,

(54) Title: HEMOSTATIC SOLUBLE CELLULOSE FIBERS CONTAINING COAGULATING PROTEIN FOR TREATING
WOUND AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: 凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維とその製造方法

(57) Abstract: Novel hemostatic soluble cellulose fibers for treating wound, when applied to a bleeding wound, which absorb moisture therein and are easily dissolved to thereby assist the hemostatic effect and cell adhesion to the wound of blood platelets and fibrin contained in the blood. These hemostatic soluble cellulose fibers for treating wound are prepared by treating natural or regenerated cellulose fiber with an aqueous sodium hydroxide solution, carboxymethylating it by reacting with a monochloroacetic acid solution for a definite period of time in such a manner as to give a partial degree of substitution (degree of etherification) of hydroxyl in the glucose unit constituting the cellulose molecules of from 0.5 to less than 1.0, and applying or chemically bonding a coagulating protein fibrinogen, thrombin or blood coagulation factor XIII.

[続葉有]

WO 01/62278 A1

出血創部に適用したときにその出血創傷部の水分を吸収して容易に溶解し、血液成分の血小板およびフィブリンの止血作用および創部への細胞接着を補助する新規な可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を提供する。天然もしくは再生セルロース繊維を水酸化ナトリウム水溶液で処理した後、セルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を部分的に置換度（エーテル化度）が0.5-1.0未満になるようにモノクロロ酢酸溶液と一定時間反応させてカルボキシメチル化し、さらに、凝固蛋白質フィブリンノーゲン、トロニン、血液凝固第XIII因子を塗布あるいは化学結合させることにより凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を調製する。

(57) 要約:



明 細 書

凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維とその製造方法

技術分野

本願発明は、細胞接着促進効果を有する凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血材とその製造方法に係り、詳しくは、体内及び体外の創傷患部に施用することにより血液凝固作用及び細胞拡張作用を促す体内吸収性の可溶性創傷被覆止血材料とその製造方法に関する。

技術背景

従来の創傷止血材としては、酸化セルロース製剤、ゼラチン製剤、及び微繊維性コラーゲンの3種が知られ、医薬品あるいは医療用具として既に使用されている。酸化セルロース製剤は、主構造を構成しているポリ無水グルコン酸がヘモグロビンと著しい親和性をもち、これと塩を形成することによって止血作用をしめす。この凝血促進作用は、血液凝固機序に対する作用より、むしろ物理的効果と考えられている。すなわち、血液の浸潤により本剤が膨張し褐色もしくは黒色のゼラチン状の塊となって凝血物の形成を促進し、局部止血の止血補助剤として効果を発揮し、約2週間で吸収されるものである。また、微繊維性コラーゲンは牛真皮などから抽出した天然コラーゲンを主な構成物としており、血液の接触により血小板凝集の形成を介して止血を行う。

しかしながら、酸化セルロース製剤は血液凝固機序に直接作用しないため、凝血作用が弱く、さらに体内で完全に吸収されるのに約2週間を要するため、その間患部の炎症、癒着等を引き起こす原因となる。また、ゼラチン製剤は、吸収性は酸化セルロースに比べ遅く、さらに動物由来

の材料であるため、狂牛病、クロイツフェルト・ヤコブ病をはじめとする様々な感染症の要因となる可能性が高い。また、微繊維性コラーゲンは完全に吸収されるのに1ヶ月以上を要し、その間患部の炎症、癒着を引き起こす。さらには材料が牛由来のため、狂牛病、未知のウイルスによる感染等の危険性を持っている。

すなわち、上記各止血材を用いた従来の方法による止血は、体内吸収性が悪く、炎症、癒着などを引き起こし易く、さらには未知の感染症に罹患する可能性がある危険性を有するものである。

また、特開平10-77571号公報には、天然もしくは再生セルロース繊維のセルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を部分的にエーテル化度が1.0以上となるようにカルボキシメチル化した、血液と接触した場合に迅速に溶解して血液と共にゼラチン状を呈して創傷面を覆い、止血効果をあげることとなる可溶性セルロース繊維について記載されている。

しかしながら、カルボキシメチル基の置換度（エーテル化度）が1.0以上のものは、血液と接触しても迅速に溶解せず、大量の不要物が残留し、著しい止血効果を示さず、さらに、可溶化したカルボキシメチルセルロース繊維は血液凝固第XII因子を始めとする凝血酵素に何ら作用を示さない。

さらに、特願平11-58412号には、天然もしくは再生セルロース繊維のセルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を、カルボキシメチル基の置換度（エーテル化度）が0.5-1.0未満となるように部分的にカルボキシメチル化した可溶性創傷治癒止血セルロース繊維について記載されている。

上記可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、血液と接触することにより迅速に溶解し、著しい止血効果を示すが、血液との接触にてのみ止血

効果を示すもの、すなわち、血液中の血小板とフィブリンを相互作用して止血効果を示すものであり、出血の少ない、すなわち、血小板やフィブリンの少ない箇所（創部）の止血は効果が低い。

発明の開示

そこで、かかる課題を解決すべく、本願発明者は鋭意検討した結果、凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維が、血液等の組織液の吸収性に優れ、血液と接触した場合には迅速に溶解し、凝血カスケードが不活性でも、凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維に含まれているトロンビンとフィブリノーゲンから変換されるフィブリンモノマーの凝集反応を促進することにより、さらには同可溶性創傷治癒止血セルロース繊維に含まれている血液凝固第XIII因子の架橋反応が凝集物を安定化することにより止血効果を示す。すなわち、凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、凝固カスケードの酵素の活性化には関係なく、トロンビンによって作成したフィブリンモノマーの凝集を促進し、更に、創傷部の血液あるいは体液との接触により速やかに溶解することにより、創傷部への血小板の粘着と凝集を促し、また、接着蛋白であるフィブロネクチンと相互作用し、フィブロネクチンの細胞接着活性を促す作用を有することを見出した。

すなわち、本願発明は、セルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を置換度（エーテル化度）が0.5 - 1.0未満となるように部分的にカルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維に、凝固蛋白質を付与してなるものであり、天然もしくは再生セルロース繊維を水酸化ナトリウム水溶液で処理した後、モノクロロ酢酸溶液と一定時間、好ましくは4 - 18時間反応させて、セルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を部分的に置換度（エーテル化度）が0.5

ー 1. 0 未満となるようにカルボキシメチル化し、精製したものに、凝固蛋白質としてフィブリノーゲン、トロンビンおよび血液凝固第XIII因子を付与し、乾燥することにより凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維としてなるものである。

また、凝固蛋白質の付与は、前記カルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維に塗布することにより、または前記カルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維と化学的に結合すること（すなわち、塗布のような物理的な結合ではない手段）により行うものである。

そして、凝固蛋白質の塗布としては、具体的には、例えば、該凝固蛋白質を含む溶液を前記カルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維に対して噴霧することにより行うとするものである。なお、この際、凝固蛋白質は、フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種をまとめて一度に塗布することとするものでも、フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種をそれぞれ単独で順次塗布することとするものでも何れでも良い。

一方、凝固蛋白質の化学的結合としては、具体的には、例えば、カルボジイミド試薬で処理した前記カルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維に該凝固蛋白質を含む溶液を加えて反応することにより行うとするものである。なお、この際、凝固蛋白質は、上記塗布の場合と同様に、フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種をまとめて一度に化学的結合させることとするものでも、フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種をそれぞれ単独で順次化学的結合させることとするものでも何れでも良い。

また、本願発明は、上述のように凝固蛋白質を付与した前記天然もしくは再生セルロース繊維を、該凝固蛋白質の付与後に乾燥してから粉状

に成形してなるものでもあり、該紛状体は、上述の通り、フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種の凝固蛋白質を、まとめて一度に塗布又は化学的結合することにより付与することとした前記天然もしくは再生セルロース繊維を粉状とすることにより得たものでも、フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種の凝固蛋白質を、それぞれ別々に単独で塗布又は化学的結合することにより付与することとした前記天然もしくは再生セルロース繊維をそれぞれ粉状とし、これらを混合することにより得たものでも、何れでも良い。

また、本願発明においては、凝固蛋白質を付与させる前記天然もしくは再生セルロース繊維を、数本の甘撚りの単糸からなる引き揃え糸、または数本の甘撚りの単糸からなる引き揃え糸を平織りもしくは綾織りした織地としたものでもあり、その際の引き揃え糸の太さを、20-100番手としたものでもある。

また、本願発明は、前記天然もしくは再生セルロース繊維を、凝固蛋白質の付与前もしくは付与後に半毛処理を施して綿状体となるようにしたものでもある。

さらに、本願発明は、これら引き揃え糸状、または織地状、または綿状とした天然もしくは再生セルロース繊維を、該凝固蛋白質の付与後に粉状に成形してなるものでもある。

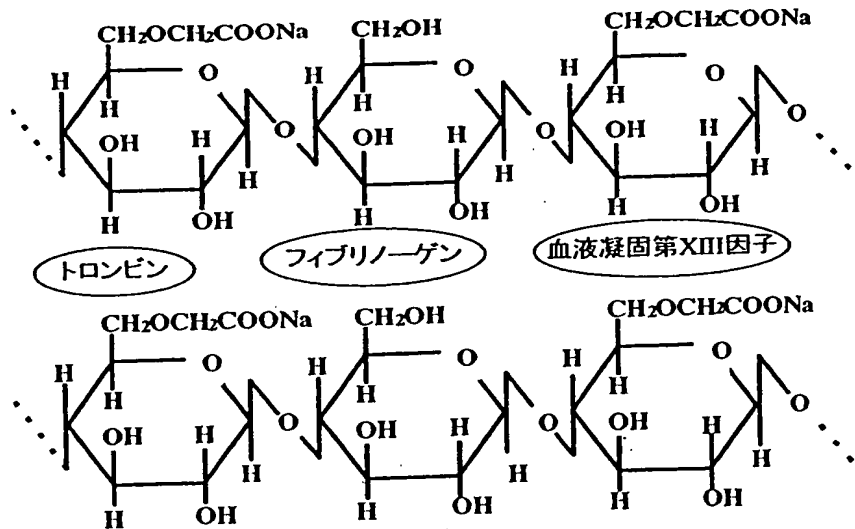
そして、本願発明は、上述のように製造した凝固蛋白質を含む各種可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を、それぞれ創傷部に施用することにより止血治癒作用を高めてなるようにするものである。

なお、本願発明における好ましい凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、セルロースを構成する構造単位として次の概略的な化学式〔化1〕または〔化2〕でもって表されるものと推測される。

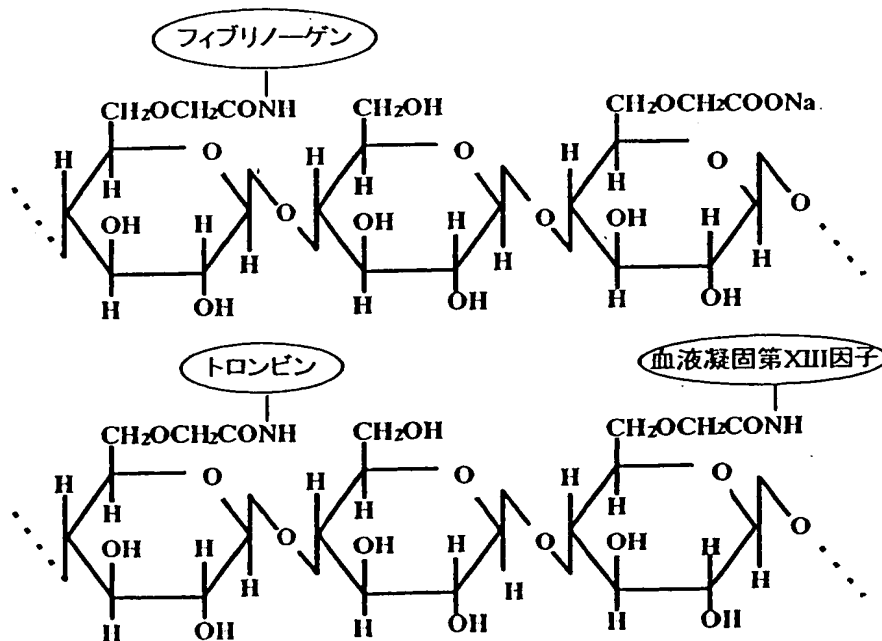
なお、〔化1〕は、凝固蛋白質が塗布手段によって付与された状態を示

すものであり、また、〔化2〕は凝固蛋白質が化学的結合手段によって付与された状態を示すものである。

〔化1〕



〔化2〕



図面の簡単な説明

第1図は、フィブリモノマーの凝集反応に対する塗布法及び化学的結合法の2種類の方法によって製造した凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の効果を示す吸光度を測定した吸光度と時間の関係を示す図である。また、第2図は、(A)可溶性創傷治癒止血セルロース繊維非存在下での血小板の凝集状態を測定した凝集率と時間の関係を示す図、(B)可溶性創傷治癒止血セルロース繊維存在下での血小板の凝集状態を測定した凝集率と時間の関係を示す図、(C)塗布法で調製した凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維存在下での血小板の凝集状態を測定した凝集率と時間の関係を示す図、(D)化学的結合法で調製した凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維存在下での血小板の凝集状態を測定した凝集率と時間の関係を示す図である。

発明を実施するための形態

以下に本願発明の凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の具体的な製造実施例、ならびに創傷治癒効果及び止血効果を実施試験例にて記述する。

可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造実施例としては、特願平11-58412号に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造法、すなわち、20本の甘撚りの糸を引き揃えて太さを40番手とした引き揃え糸を1/2斜紋織り（いちにしゃもんおり）の織地に成形した天然もしくは再生セルロース繊維70gを1000mLの回転式反応容器に入れ、これに45%水酸化ナトリウム水溶液の38容量と95%エタノール62容量とからなる水酸化ナトリウムのエタノール溶液250mLを加え、よく浸潤させて25℃で2時間攪拌した。次に、この反応液中

に、モノクロロ酢酸の40容量と95%エタノール60容量とからなるモノクロロ酢酸反応溶液210 mLを加え、4~18時間程攪拌した。反応終了後、得られた繊維を含む液の水素イオン指数(pH)を20%塩酸で7.0に調製し、さらに繊維中の塩化ナトリウムの含有量が1%以下になるまで60~95%エタノール水溶液にて洗浄した。かくして処理されたセルロース繊維を、乾燥、滅菌し、目的物であるエーテル化度(カルボキシメチル基への置換度)が0.5~1.0未満の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を得た。なお、以下の各試験例において記述する「可溶性創傷治癒止血セルロース繊維」は、特に言及しない限り上記の手段にて得られる可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を言うものとする。

次に、試験例1として、得られた可溶性創傷治癒止血セルロース繊維のエーテル化度(カルボキシメチル基への置換度)が0.5~1.0未満であることを確認するために、モノクロロ酢酸反応溶液との攪拌時間に対応するエーテル化度の測定をそれぞれ行った。測定方法は、上記実施例にてモノクロロ酢酸反応溶液との攪拌を2, 4, 8, 14, 18時間行うことによりそれぞれ製造した各可溶性創傷治癒止血セルロース繊維1 gを細かく切り、すり合わせ三角フラスコ(50 mL)中に入れ、硝酸メタノール溶液25 mL(メタノール100 mLと硝酸10 mLの混合液)を加えて1時間振とうし、水素型の試料とする。次いで、ガラスフィルター(G3)で吸引ろ過することにより試料をトラップし、800 g/Lメタノール溶液(無水メタノール100 mLと水20 mLの混合液)120 mL(40 mL×3回)で試料を洗浄し、最後に無水メタノール25 mLで洗浄後、吸引ろ過し、フィルター上の試料を105℃で2時間乾燥する。さらに、水素型となった試料0.2 gを精密に秤量し、すり合わせ三角フラスコ(100 mL)に入れ800 g/Lメタ

造した可溶性創傷治癒止血セルロース繊維（モノクロロ酢酸との反応時間が14時間のもの）15.6mg（1cm²）に、凝固蛋白質であるフィブリノーゲン5mg、トロンビン1.5単位、血液凝固第XIII因子8単位を含む60%エタノール溶液0.2mLを送風機で乾燥させながら均一に噴霧することにより、塗布させた凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を得た。

一方、化学的結合法としては、カルボジイミドを用いる方法によって行い、上記実施例にて製造した可溶性創傷治癒止血セルロース繊維（モノクロロ酢酸との反応時間が14時間のもの）15.6mgを5mL容ガラス試験管に入れ、60%エタノール溶液1mLを添加後、1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド38mgを加え、30℃で2時間攪拌した後、反応液を除去し、該カルボジイミド試薬で処理した可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を60%エタノール溶液3mLで3回洗浄した。次に、凝固蛋白質であるフィブリノーゲン5mg、トロンビン1.5単位、血液凝固第XIII因子8単位を含む60%エタノール溶液1mLを加え、30℃で2時間反応させた。そして、未反応のカルボキシル基をブロックするため、L-リシン29mgを加え、さらに30℃で1時間反応させた後、反応液を除去し、反応後の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を60%エタノール溶液3mLで3回、95%エタノール溶液3mLで1回洗浄した。そして、これを50℃で5分間乾燥することにより、化学的に結合させた凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を得た。

次に、試験例3として、上記塗布法及び化学的結合法によりそれぞれ得られた凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の可溶性を確認するために、凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の0.95%食塩水と純水に対する可溶性を測定した。測定方法は、

ノール 8 mL および 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム標準液 20 mL を加え 25℃ で 30 分振とうし、水素型の試料をナトリウム型にする。そして、余剰の水酸化ナトリウム量を規定度既知の 0.05 mol/L の硫酸でフェノールフタレインを指示薬として滴定することにより求め、それよりエーテル化度を求めることにより行った。測定した結果を〔表 1〕に示す。

〔表 1〕

可溶性創傷治癒止血 セルロース繊維番号	エーテル化度(カルボキシメチル基の置換度)				
	攪拌反応時間(hr)				
	2	4	8	14	18
1	0.410	0.612	0.701	0.801	0.856
2	0.401	0.611	0.693	0.793	0.823
3	0.421	0.632	0.721	0.812	0.842
4	0.425	0.625	0.688	0.801	0.825
5	0.416	0.601	0.701	0.812	0.831

上記〔表 1〕に示す結果の通り、モノクロロ酢酸との反応時間が 4 時間以上で、置換度 0.5 以上の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を製造することができる。従って、モノクロロ酢酸との反応時間を制御することによりカルボキシメチル基の置換度を制御できることが分かる。

次に、試験例 2 として、凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造法、すなわち、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維とされた天然もしくは再生セルロース繊維への凝固蛋白質の付与方法について説明する。そして、凝固蛋白質の付与方法としては、塗布法と化学的結合法の 2 種類の方法が考えられるため、以下にそれぞれ説明する。

まず、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は水に対しては可溶であるが、60%以上のエタノールを含む水溶液の場合、溶解せず繊維状態を保つことが出来るものであるので、塗布法としては、上記実施例にて製

凝固蛋白質をそれぞれの方法で含む各可溶性創傷治癒止血セルロース繊維 0.1 g を (0.1 w/v % になるように)、100 mL の 0.95 % 食塩水および純水にそれぞれ加え、25℃で攪拌しながら、目視で不溶物が消失するまでの時間を観察した。その結果を〔表 2〕に示す。

〔表 2〕

調製方法	凝固蛋白質を含む可溶性創傷 治癒止血セルロース繊維番号	溶解するまでの時間(分)	
		純水	0.95%食塩水
塗布法	1	10	18
	2	11	19
	3	9	17
	4	12	17
	5	10	19
化学的 結合法	1	9	19
	2	11	19
	3	10	18
	4	9	17
	5	11	19

上記〔表 2〕に示す結果の通り、本願発明の凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、凝固蛋白質を付与する方法が塗布法又は化学的結合法の何れの場合であっても共に純水にも食塩水にも確実に、かつ速やかに完全に溶解するものであることが分かる。

次に、試験例 4 として、同じく塗布法及び化学的結合法によりそれぞれ得られた凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維のフィブリンモノマー凝集活性を確認するために、350 nm での吸光度の測定を紫外可視分光光度計 U-3210 (日立製作所製) を用いて行った。吸光度の測定は 1 w/v % の凝固蛋白質をそれぞれ含む各可溶性創傷治癒止血セルロース繊維 (塗布法により調製したもの及び化学的結合法により調製したもの) の存在下、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維 (す

なわち、凝固蛋白質が付与されていないもの)の存在下、及び可溶性創傷治癒止血セルロース繊維非存在下(コントロール)の 0.15 mol/L 塩化ナトリウム(NaCl)を含む 20 mmol/L イミダゾール緩衝液($\text{pH}7.4$) $500\text{ }\mu\text{L}$ に、 20 mmol/L 酢酸に溶解したフィブリンモノマー($A_{280\text{ nm}}=6$)を $20\text{ }\mu\text{L}$ 添加し、フィブリンモノマー添加20秒後から30秒毎に25分間 350 nm の吸光度を測定することにより行った。その測定した結果を[図1]に示す。

[図1]に示す結果より、凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、凝固蛋白質を付与する方法が塗布法又は化学的結合法の何れの場合であっても共にフィブリンモノマーの凝集を著しく促進し、さらに、凝固蛋白質が付与されていない可溶性創傷治癒止血セルロース繊維に比してもフィブリンモノマー凝集促進活性が一層優れたものとなることが分かる。

次に、試験例5として、同じく塗布法及び化学的結合法によりそれぞれ得られた凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の血小板凝集促進活性の確認と、該凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の血小板凝集促進活性が可溶性創傷治癒止血セルロース繊維(すなわち、凝固蛋白質が付与されていないもの)に比して一層優れたものとなることを確認する為に、血小板凝集能の測定を血小板凝集計

(メバニクス社製)を用いて行った。血小板凝集能の測定は $1\text{ w/v}\%$ の凝固蛋白質をそれぞれの方法で含む各可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の存在下、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維(すなわち、凝固蛋白質が付与されていないもの)の存在下、及び可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の非存在下での各 0.15 mol/L 塩化ナトリウム(NaCl)を含む 20 mmol/L イミダゾール緩衝液と富血小板血漿を1:1の割合で混合し、血小板凝集剤として種々の濃度のアデノシンニリ

ン酸（ADP）を添加し、反応液の濁度変化を測定することにより行った。その測定した結果を〔表 3〕および〔図 2〕に示す。

〔表 3〕

	チャンネル 番号	ADP 濃度 (μ mol/l)	最大凝集率 (%)	出現時間 (min)	5.0 分値 凝集(%)	5.0 分面積	解離率 (%)
可溶性創傷治癒 止血セルロース 繊維の非存在下	1	0.5	63	1.9	52	2795	38
	2	1.0	62	2.7	57	2783	20
	3	2.0	66	2.7	66	2973	10
	4	4.0	65	3.7	65	2839	3
可溶性創傷治癒 止血セルロース 繊維の存在下	5	0.5	65	3.7	64	2910	8
	6	1.0	68	6.1	68	2943	0
	7	2.0	69	6.5	68	2929	0
	8	4.0	68	6.5	68	2929	0
塗布法で調製した 凝固蛋白質を含む 可溶性創傷治癒 止血セルロース繊維 の存在下	9	0.5	99	10	95	2910	0
	10	1.0	97	9.5	96	2950	0
	11	2.0	94	9.8	98	2960	0
	12	4.0	95	9.7	92	2930	0
化学的結合法で調 製した凝固蛋白質 を含む可溶性創傷 治癒止血セルロ ース繊維の存在下	13	0.5	95	9.9	94	2940	0
	14	1.0	96	9.7	94	2950	0
	15	2.0	99	9.9	97	2940	0
	16	4.0	98	9.8	95	2970	0

〔表 3〕および〔図 2〕に示す結果より、凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、凝固蛋白質を付与する方法が塗布法又は化学的結合法の何れの場合であっても共に血小板の凝集を著しく促進し、さらに、凝固蛋白質が付与されていない可溶性創傷治癒止血セルロース繊維に比して血小板凝集促進活性が一層優れたものとなることが分かる。

次に、試験例 6 として、同じく塗布法及び化学的結合法によりそれぞれ得られた凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の細胞接着促進活性を確認するとともに、細胞接着促進活性が可溶性創傷治癒止血セルロース繊維（すなわち、凝固蛋白質が付与されていないもの）に比して一層優れたものとなることを明らかにするために、1 w/v %

の凝固蛋白質をそれぞれの方法で含む各可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の添加の下で接着した細胞数の測定を、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維（すなわち、凝固蛋白質が付与されていないもの）の添加の下で接着した細胞数の測定、及び可溶性創傷治癒止血セルロース繊維等未添加の場合に接着した細胞数の測定とともにを行った。接着した細胞数の測定は、細胞接着蛋白フィブロネクチン、ビトロネクチン、ラミニン、コラーゲン、あるいはフィブリンを種々の濃度で96ウェルプレートに被覆し、その上に5,000個のNIH-3T3を入れ、6時間後に一定接着した細胞の数を一定視野で測定することにより、細胞接着活性を示さない各接着蛋白の濃度を求め、これに1w/v%の凝固蛋白質をそれぞれの方法で含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維あるいは可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を各々添加することにより、もしくは何ら添加しないことにより、接着した細胞数を一定視野で測定することより行った。測定した結果を〔表4〕に示す。

〔表4〕

細胞接着蛋白	細胞接着蛋白濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	接着細胞数			
		可溶性創傷治癒止血セルロース繊維未添加	可溶性創傷治癒止血セルロース繊維添加	塗布法で調製した凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維添加	化学的結合法で調製した凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維添加
フィブロネクチン	0.1	20	80	320	313
ビトロネクチン	0.5	10	60	295	290
ラミニン	0.1	12	56	290	300
コラーゲンI	0.1	5	60	289	285
コラーゲンIII	0.1	8	62	292	296
フィブリン	0.1	10	60	290	299

〔表4〕に示す結果より、凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、凝固蛋白質を付与する方法が塗布法又は化学的結合法の何れの場合であっても共に接着細胞数を著しく増加させること、すなわ

ち細胞接着促進活性を有することが分かるとともに、凝固蛋白質が付与されていない可溶性創傷治癒止血セルロース繊維に比して細胞接着促進活性が一層優れたものとなることが分かる。

次に、試験例7として、創傷患部に、同じく塗布法及び化学的結合法によりそれぞれ得られた凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維をそれぞれ施用した際の止血効果と創傷治癒効果を確認するとともに、止血効果と創傷治癒効果が可溶性創傷治癒止血セルロース繊維（すなわち、凝固蛋白質が付与されていないもの）に比して一層優れたものとなることを明らかにするために、1 w/v %の凝固蛋白質をそれぞれの方法で含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を創傷患部に各々施用した際の止血時間の測定及び創傷部の治癒度の確認を、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を創傷患部に施用した際の止血時間の測定及び創傷部の治癒度の確認、及び可溶性創傷治癒止血セルロース繊維非施用の場合の止血時間の測定とともに行った。止血時間の測定は、10匹のラットの肝臓をそれぞれ1 cm×1 cm四方に切断し、創部に凝固蛋白質を含む各可溶性創傷治癒止血セルロース繊維あるいは可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を貼付し、もしくは何ら（可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は）貼付しないで、止血した時間（秒）を測定することにより行い、その際の止血効果を未処置のもの及び凝固蛋白質非付与のものと比較して確認し、また、治癒度の確認は、それぞれの方法で凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維あるいは可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を創部に各々貼付し、止血時間の測定をした後閉腹し、1ヶ月後に開腹して創部の病理切片を調製し顕微鏡にて治癒度を目視確認することにより行った。測定した結果及び確認した結果を〔表5〕に示す。なお、創傷部の治癒度の確認は、正常と同じであるものを◎印、少し炎症しているものを○印、炎症癒着しているものを×印で示すこと

とした。

[表 5]

ラット番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均	CV
可溶性創傷治癒止血セルロース繊維 未処理での止血時間(秒)	152	141	180	160	120	150	120	137	165	201	153	16.7%
可溶性創傷治癒止血セルロース繊維 処理での止血時間(秒)	29 ◎	32 ◎	31 ◎	37 ◎	34 ◎	35 ◎	32 ◎	27 ◎	35 ◎	35 ◎	33	9.5%
塗布法で調製した凝固蛋白質を含む可溶性 創傷治癒止血セルロース繊維処理での止血 時間(秒)	10 ◎	12 ◎	13 ◎	11 ◎	8 ◎	9 ◎	12 ◎	11 ◎	10 ◎	9 ◎	11	15.1%
化学的結合法で調製した凝固蛋白質を含む 可溶性創傷治癒止血セルロース繊維処理で の止血時間(秒)	11 ◎	10 ◎	12 ◎	9 ◎	12 ◎	11 ◎	8 ◎	9 ◎	10 ◎	12 ◎	10	13.7%

[表 5] に示す結果により、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は著しい止血効果を持ち、かつ、可溶性創傷治癒止血セルロース繊維による処置を施した 10 匹のラットは、ほとんど完全に治癒して全く炎症等を生じていないことから、凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、凝固蛋白質を付与する方法が塗布法又は化学的結合法の何れの場合であっても共に可溶性創傷治癒止血セルロース繊維に比べても著しい止血効果と創傷治癒効果を有することが分かる。

以上のように製造された本願発明の凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、凝固蛋白質を付与する方法が塗布法又は化学的結合法の何れの場合であっても共に創傷部位に施用すると血液および組織液の水分を吸収し、血液及び組織液の濃度および粘度を増加させ、該凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維に含まれるフィブリノーゲン、トロンビン及び血液凝固第 XIII 因子の作用により強固なフィブリン凝集物を作成させることにより、血液および組織液の流れる速度を減少させるようにして効果的に止血作用を発揮させるとともに、創部において血小板の粘着と凝集を補助し、止血作用を発揮するものであ

る。

さらに、本願発明の凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、フィブロネクチン等の接着蛋白と相互作用し、創傷治癒で重要な役割を示す繊維芽細胞の増延を補助するものでもある。

なお、上記実施試験例は、凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維のナトリウム塩について説明したが、本願発明はこれに限らず、凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維のカルシウム塩や、複数の塩が混在しているものであっても何ら制限されるものではない。

また、上記実施試験例はいずれも織地に成形した凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維について説明したが、本願発明はこれに限らず、糸状に成形したものや、糸状もしくは織地状の凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維に粉碎処理を施すことにより粉状に成形したもの、さらに、糸状もしくは織地状の凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維に反毛処理を施すことにより綿状に成形したものであっても、目的とする凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血効果を発揮するものであれば本願発明に含まれてなるものであることは言うまでもない。

産業上の利用可能性

以上のように本願発明の凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維は、止血作用が非常に速く効果的で、炎症反応をほとんど起こさず体内吸収性が速やかにおこり、創傷治癒効果が高いものである。

また、本願発明の凝固蛋白を含む可溶性創傷治癒止血材は、効率よく患部の止血および細胞接着促進性に基づく創傷治癒効果が可能であるとともに、体内、体外の止血創傷治癒材として非常に有効であり、創傷部

位の治癒効果を高める創傷被覆止血材として広い応用分野の可能性が
あることを見出すことが出来た。

請 求 の 範 囲

1. セルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を置換度が0.5 - 1.0未満となるようにカルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維に、凝固蛋白質を付与してなることを特徴とする可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。
2. 凝固蛋白質は、フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種であることを特徴とする請求項1に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。
3. 凝固蛋白質は、前記カルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維に塗布することにより付与されたものであることを特徴とする請求項2に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。
4. 凝固蛋白質は、溶液の噴霧により塗布されてなるものであることを特徴とする請求項3に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。
5. 凝固蛋白質は、フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種がまとめて一度に塗布されたものであることを特徴とする請求項3又は4に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。
6. 凝固蛋白質は、フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種がそれぞれ単独で順次塗布されたものであることを特徴とする請求項3又は4に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。
7. 凝固蛋白質は、前記カルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維と化学的に結合することにより付与されたものであることを特徴とする請求項2に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。
8. 凝固蛋白質は、カルボジイミドで処理した前記カルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維と反応することにより化学的に結合されてなるものであることを特徴とする請求項7に記載の可溶性創

傷治癒止血セルロース繊維。

9. 凝固蛋白質は、フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種がまとめて一度に化学的結合されたものであることを特徴とする請求項7又は8に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

10. 凝固蛋白質は、フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種がそれぞれ単独で順次化学的結合されたものであることを特徴とする請求項7又は8に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

11. 前記天然もしくは再生セルロース繊維を、凝固蛋白質の付与後に粉状にしてなることを特徴とする請求項1乃至10の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

12. 凝固蛋白質としてフィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種をそれぞれ別々に単独で塗布することにより付与した前記天然もしくは再生セルロース繊維を、該凝固蛋白質の付与後にそれぞれ粉状として混合してなることを特徴とする請求項1に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

13. 凝固蛋白質は、溶液の噴霧により塗布されてなるものであることを特徴とする請求項12に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

14. 凝固蛋白質としてフィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種をそれぞれ別々に単独で化学的結合することにより付与した前記天然もしくは再生セルロース繊維を、該凝固蛋白質の付与後にそれぞれ粉状として混合してなることを特徴とする請求項1に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

15. 凝固蛋白質は、カルボジイミド試薬で処理した前記カルボキシメチル化した天然もしくは再生セルロース繊維と反応することにより化学的に結合されてなるものであることを特徴とする請求項14に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

16. 前記天然もしくは再生セルロース繊維が、数本の甘撚りの単糸からなる引き揃え糸であることを特徴とする請求項1乃至15の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

17. 前記天然もしくは再生セルロース繊維が、数本の甘撚りの単糸からなる引き揃え糸を平織りもしくは綾織りした織地であることを特徴とする請求項1乃至15の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

18. 引き揃え糸の太さは、20-100番手であることを特徴とする請求項16又は17に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

19. 前記天然もしくは再生セルロース繊維が、半毛処理を施した綿状体であることを特徴とする請求項1乃至15の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維。

20. 天然もしくは再生セルロース繊維を水酸化ナトリウム水溶液で処理した後、モノクロ酢酸溶液と反応させてセルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を置換度（エーテル化度）が0.5-1.0未満となるようにカルボキシメチル化し、精製し、さらに、凝固蛋白質であるフィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種の溶液を噴霧して塗布することにより該凝固蛋白質を付与し、乾燥してなることを特徴とする可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

21. フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種の溶液の噴霧は、まとめて一度に行われてなることを特徴とする請求項20に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

22. フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種の溶液の噴霧は、それぞれ単独で順次行われてなることを特徴とする請求項20に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

23. 天然もしくは再生セルロース繊維を水酸化ナトリウム水溶液で処

理した後、モノクロロ酢酸溶液と反応させてセルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を置換度（エーテル化度）が0.5 - 1.0未満となるようにカルボキシメチル化し、精製し、次いで、カルボジイミド試薬で処理した後、さらに、凝固蛋白質であるフィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種の溶液で処理して化学的に結合することにより該凝固蛋白質を付与し、乾燥してなることを特徴とする可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

24. フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種の溶液の処理は、まとめて一度に行われてなることを特徴とする請求項23に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

25. フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種の溶液の処理は、それぞれ単独で順次行われてなることを特徴とする請求項23に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

26. 凝固蛋白質の付与後、乾燥してから前記天然もしくは再生セルロース繊維を粉状にしてなることを特徴とする請求項20乃至25の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

27. フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種の溶液の噴霧はそれぞれ別々に単独で行われ、該凝固蛋白質の付与後、乾燥してから前記天然もしくは再生セルロース繊維をそれぞれ粉状とし、これを混合してなることを特徴とする請求項20に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

28. フィブリノーゲンとトロンビンと血液凝固第XIII因子の3種の溶液での化学的結合はそれぞれ別々に単独で行われ、該凝固蛋白質の付与後、乾燥してから前記天然もしくは再生セルロース繊維をそれぞれ粉状とし、これを混合してなることを特徴とする請求項23に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

29. モノクロ酢酸溶液とは4～18時間反応させてなることを特徴とする請求項20乃至28の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

30. 天然もしくは再生セルロース繊維が、数本の甘撚りの単糸からなる引き揃え糸であることを特徴とする請求項20乃至29の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

31. 天然もしくは再生セルロース繊維が、数本の甘撚りの単糸からなる引き揃え糸を平織りもしくは綾織りした織地であることを特徴とする請求項20乃至29の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

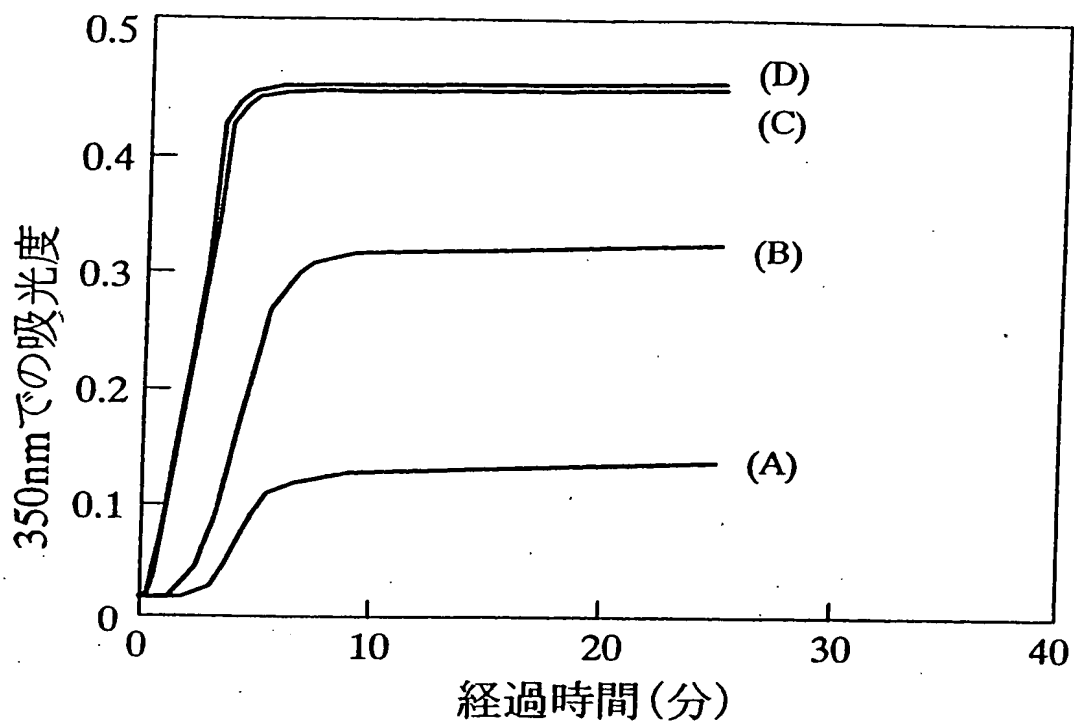
32. 引き揃え糸の太さは20～100番手であることを特徴とする請求項30又は31に記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法。

33. 天然もしくは再生セルロース繊維が、半毛処理を施した綿状体であることを特徴とする請求項20乃至29の何れかに記載の可溶性創傷治癒止血セルロース繊維の製造方法

要 約 書

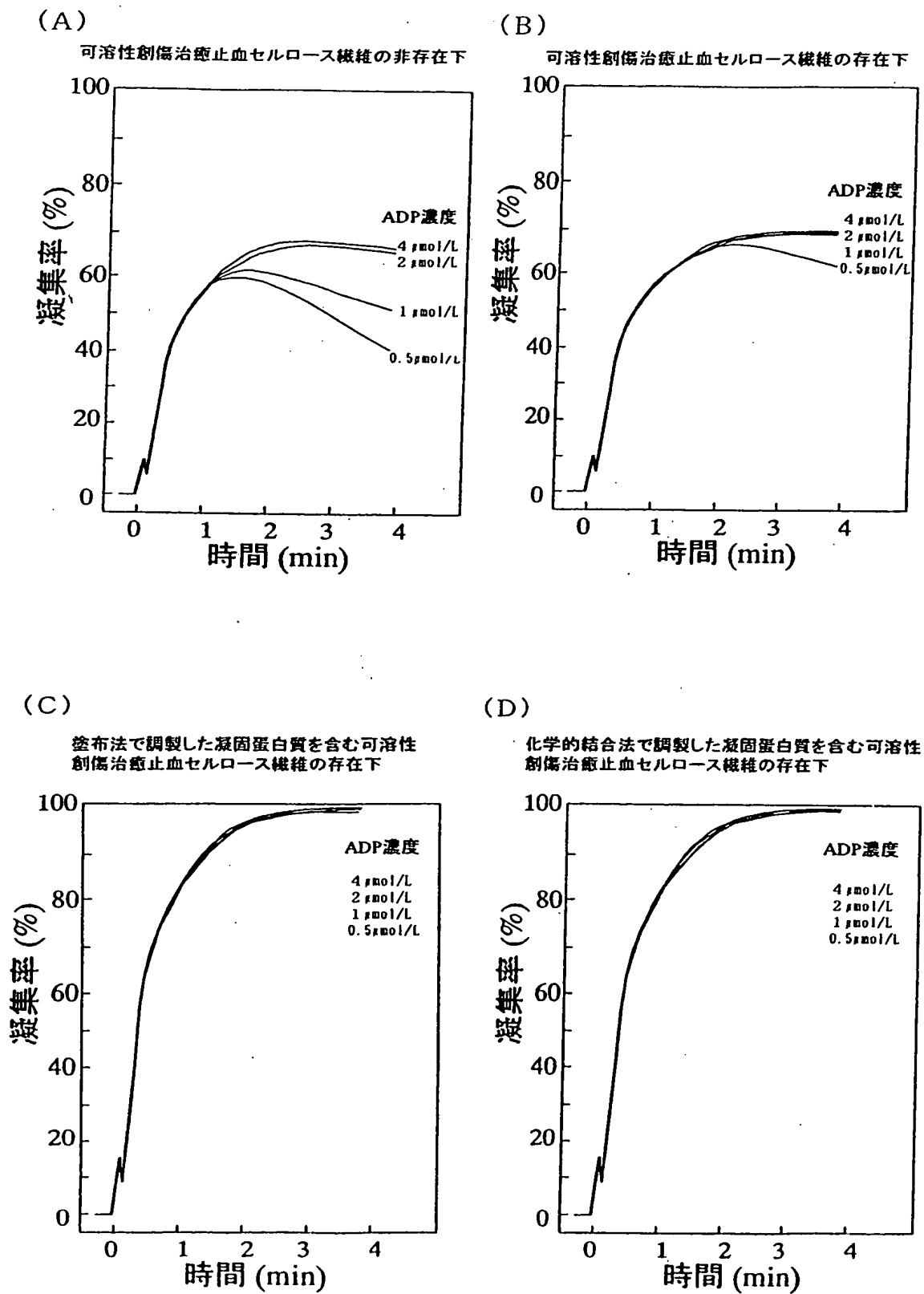
出血創部に適用したときにその出血創傷部の水分を吸収して容易に溶解し、血液成分の血小板およびフィブリンの止血作用および創部への細胞接着を補助する新規な可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を提供する。天然もしくは再生セルロース繊維を水酸化ナトリウム水溶液で処理した後、セルロース分子を構成するグルコース単位中の水酸基を部分的に置換度（エーテル化度）が0.5 - 1.0未満になるようにモノクロロ酢酸溶液と一定時間反応させてカルボキシメチル化し、さらに、凝固蛋白質フィブリノーゲン、トロンビン、血液凝固第XIII因子を塗布あるいは化学結合させることにより凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維を調製する。

第 1 図



- (A) : 可溶性創傷治癒止血セルロース繊維非存在下 (コントロール)、
- (B) : 1 % 可溶性創傷治癒止血セルロース繊維存在下、
- (C) : 塗布法で調製した 1 % 凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維存在下、
- (D) : 化学的結合法で調製した 1 % 凝固蛋白質を含む可溶性創傷治癒止血セルロース繊維存在下、

第 2 図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

National application No.

PCT/JP01/01285

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K38/36, 38/37, 31/715, 9/00, 47/38, A61P17/02, 7/04, A61L15/16, D06M13/21

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K38/36, 38/37, 31/715, 9/00, 47/38, A61P17/02, 7/04, A61L15/16, D06M13/21

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, Y	EP, 956869, A2 (HOGY MEDICAL CO.), 17 November, 1999 (17.11.99), whole document & US, 6200587, A & JP, 11-322615, A	1-33
P, A	JP, 3057446, B (HOGY MEDICAL CO.), 21 April, 2000 (21.04.00) & JP, 2000-256958, A & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN.133:121860	1-33
Y	WO, 96/40174, A1 (THE AMERICAN NATIONAL RED CROSS), 19 December, 1996 (19.12.96), whole document & EP, 869804, A1 & US, 6054122, A & JP, 11-507277, A	1-33
Y	WO, 96/17633, A1 (THE AMERICAN NATIONAL RED CROSS), 13 June, 1996 (13.06.96), whole document & EP, 796115, A1 & JP, 10-510183, A	1-33

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
28 March, 2001 (28.03.01)Date of mailing of the international search report
10 April, 2001 (10.04.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO, 96/40174, A1 (THE AMERICAN NATIONAL RED CROSS) 19. 12月. 1996 (19. 12. 96) whole document & EP, 869804, A1 & US, 6054122, A & JP, 11-507277, A	1-33
Y	WO, 96/17633, A1 (THE AMERICAN NATIONAL RED CROSS) 13. 6月. 1996 (13. 06. 96) whole document & EP, 796115, A1 & JP, 10-510183, A	1-33

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K38/36, 38/37, 31/715, 9/00, 47/38, A61P17/02, 7/04, A61L15/16, D06M13/21

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K38/36, 38/37, 31/715, 9/00, 47/38, A61P17/02, 7/04, A61L15/16, D06M13/21

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X, Y	EP, 956869, A2 (HOGY MEDICAL CO.) 17. 11月. 1999 (17. 11. 99) whole document & US, 6200587, A & JP, 11-322615, A	1-33
P, A	JP, 3057446, B (株式会社ホギメディカル) 21. 4月. 2000 (21. 04. 00) & JP, 2000-256958, A & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), (Columbus, OH, USA), DN. 133:121860	1-33

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28. 03. 01

国際調査報告の発送日

10.04.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

森井 隆信

4C

9455

電話番号 03-3581-1101 内線 3451